

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIDADE EDUCACIONAL VIÇOSA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO E TECNOLOGIA INTEGRADAS
À MEDICINA VETERINÁRIA

CAMILA DE MORAIS PEDROSA

**Frequência de *Neospora caninum* e de *Toxoplasma gondii* em Cachorro-do-Mato
(*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1776) no estado de Alagoas, Brasil**

Viçosa - AL

2018

CAMILA DE MORAIS PEDROSA

**Frequência de *Neospora caninum* e de *Toxoplasma gondii* em Cachorro-do-Mato
(*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1776) no estado de Alagoas, Brasil**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação e Tecnologia Integradas à Medicina Veterinária da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a Dra. Annelise Castanha Barreto Tenório Nunes

Coorientador: Prof^o Dr. Wagner José Nascimento Porto

Viçosa – AL

2018

FOLHA DE APROVAÇÃO

CAMILA DE MORAIS PEDROSA

**Frequência de *Neospora caninum* e de *Toxoplasma gondii* em Cachorro-do-Mato
(*Cercyon thous*, Linnaeus, 1776) no estado de Alagoas, Brasil**

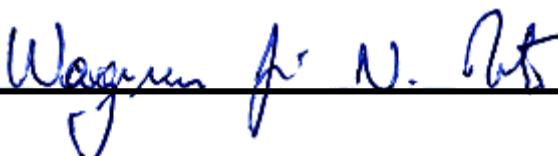
Dissertação submetida ao corpo docente do
Programa de Pós-Graduação em Inovação e
Tecnologia Integradas à Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Alagoas e aprovada em
28 de setembro de 2018.

Prof^a Dra. Annelise Castanha Barreto Tenório Nunes – UFAL – Orientadora



BANCA EXAMINADORA:

Prof^a Dr. Wagner José Nascimento Porto – UFAL – Examinador Interno



Prof^a Dra. Flaviana Santos Wanderley – UNCISAL – Examinador Externo



Bibliotecária Responsável: Edvânia Cosmo da S. Gonçalves

1. Canídeos 2. *Neospora caninum* 3. *Toxoplasma gondii* I. Título
CDU:636.7

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por iluminar meus caminhos me dando força e sabedoria para concluir esta etapa da minha vida.

A minha família por ter acreditado na minha capacidade, além de todo amor, apoio e incentivo durante toda jornada do mestrado.

A minha orientadora, Profa. Dra. Annelise Castanha Barreto Tenório Nunes, por ter acreditado em mim e proporcionado esta oportunidade. Por todo apoio, ensinamento, paciência, amizade e contribuição ao longo destes anos. Meu eterno agradecimento.

Ao Prof. Dr. Wagner José Nascimento Porto, por ter aceitado me coorientar, meu principal apoio quando cheguei a Viçosa. Sempre me ensinando a trabalhar com ética e responsabilidade. Meu agradecimento especial.

Aos amigos do Laboratório de Parasitologia da UFAL. Em especial Maria Heloisa Gomes Silva de Oliveira, Laura Gonsalves da Silva, Walter Franklin Bernardino Leão Filho, que me receberam de braços abertos, companheiros incansáveis de coleta e processamento das amostras, obrigada por toda ajuda, conversas, risadas e momentos especiais no laboratório.

Ao Professor José Wilson Nascimento Porto Sobrinho, pela amizade, torcida, apoio e por nunca medir esforços na ajuda dos seus alunos.

Ao Antônio Martins de Oliveira Júnior, o “Tony”, pela parceria e colaboração para que as coletas fossem realizadas com sucesso.

Ao Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota, a quem eu especialmente admiro pela competência em ensinar e orientar e que me deu a oportunidade de executar parte do experimento no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas dos Animais Domésticos da URFPE (LDIC). Obrigada pelo carinho e atenção que sempre me dispensou desde a época da especialização. Meu agradecimento e admiração.

Aos eternos amigos do LDIC, pela amizade, risadas e ajuda na fase do experimento. Agradeço em especial à Renata Pimentel (A chefe) pelo auxílio no processamento, paciência, conselhos e conhecimentos transmitidos, a Gabriela Silva, pela amizade, paciência, motivação e por ser dona do melhor abraço e melhores conselhos e à Amanda Silva que me ajudou diretamente na etapa de processamento das amostras.

A Lorena D' Andrade Aires, do Laboratório de Histologia da UFRPE, obrigada pela colaboração, ajuda e disponibilidade na confecção das lâminas do exame histopatológico e pelo tempo despendido para me ajudar sempre com o sorriso no rosto. Meu muito obrigada.

A Amanda Moraes, por toda paciência, conselhos e por me tranquilizar nas horas de “desespero”.

A todos que contribuíram direto e indiretamente para o meu crescimento pessoal e profissional durante a realização desse trabalho.

“Nós podemos ter qualquer coisa que escolhermos. Não me importo com o tamanho do desafio.”

John Assaraf

RESUMO

O Brasil apresenta uma grande diversidade de fauna e flora. No entanto, esta diversidade tem sido ameaçada por intervenção das ações humanas. Estas interferências têm causado perturbações aos habitats naturais, promovendo a evasão das populações de animais selvagens para áreas urbanas, resultando na interação entre populações humanas e animais domésticos, favorecendo assim a transmissão de doenças infecciosas comuns a estes animais, como neosporose e toxoplasmose. A neosporose e a toxoplasmose são enfermidades parasitárias causadas por *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* respectivamente. São protozoários responsáveis por provocar significativas perdas reprodutivas e econômicas no mundo, sendo reconhecida com umas das principais causas de aborto em ruminantes. Estudos têm demonstrado a ocorrência de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em canídeos selvagens, evidenciando a importância dessas espécies como hospedeiros definitivos e intermediários desses protozoários. Neste seguimento, sendo o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) um hospedeiro intermediário para *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum*, pode-se considerar a possibilidade deste canídeo ser um hospedeiro definitivo para estes agentes. Este estudo teve por objetivo pesquisar a infecção por *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) encontrados mortos no estado de Alagoas, Brasil. Foram recolhidos 30 animais mortos próximos às rodovias, mas utilizados 17 animais. Destes, treze eram adultos, sendo oito machos e cinco fêmeas (uma em fase final de gestação com quatro fetos). Desses animais, dependendo da situação, foram coletados fragmentos de cérebro, coração, fígado, pulmão, intestino e fezes. As amostras foram analisadas pela técnica de Reação de Cadeia da Polimerase (PCR), exame histopatológico e coproparasitológico respectivamente. Na pesquisa para *T. gondii* a prevalência foi de 82,35 % (14/17) na PCR, destes, 75,59% (12/17) amplificados em fragmentos de coração, 58,33% (7/12) em cérebro, 75% (3/4) em placenta e 33,33% (1/3) em fígado. Não foi observada a presença de cistos ou taquizoítos na histopatologia. Os exames coproparasitológicos foram negativos. Não houve amostras positivas para *N. caninum* em nenhum das técnicas realizadas. Este é o primeiro estudo da ocorrência por *T. gondii* em cachorro-do-mato no estado de Alagoas, Brasil.

Palavras-chave: *Cerdocyon thous*. Hospedeiros. Neosporose. Toxoplasmose. Diagnóstico

ABSTRACT

Brazil has a great fauna and flora variety. Due to the human intervention this variety has been threatened, though. This intervention has been causing disorders in natural habitats and the evasion of wildlife animals population to urban areas, resulting in interaction among human population and domestic animals, promoting the transmission of infectious diseases common to those animals, for instance neosporosis and toxoplasmosis. Neosporosis and toxoplasmosis are parasitic diseases caused by *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* respectively. Those are protozoans responsible for significant breeding and economical worldwide losses, known as one of the main causes of abortions in ruminants. Nevertheless, *Toxoplasma gondii* is not only limited to the animal life, it might expand to human populations, being known as one of the most worldwide spread zoonosis. Several researches have shown the occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in wild canids, evincing the importance of these species as intermediate and definitive hosts of this protozoan. In this segment, being the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*), an intermediate host, could be possible to consider this canid a definitive host. Therefore, new researches in this area must be carried out to stablish the relationship between this animal in the cycle of these pathogens and its impact in producing animals and public health.

Keywords: *Cerdocyon thous*. Hosts. Neosporosis. Toxoplasmosis. Diagnosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - <i>Cerdocyon thous</i>	14
Figura 2 - <i>Lycalopex vetulus</i>	14
Figura 3 - Ciclo Biológico de <i>Toxoplasma gondii</i>	17
Figura 4 - Estágios evolutivos <i>Toxoplasma gondii</i>	18
Figura 5 - Ciclo Biológico de <i>Neospora caninum</i>	21
Figura 6 - Estágios evolutivos <i>Neospora caninum</i>	22
Figura 7 - Mapa Mesorregiões do Estado de Alagoas	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	por cento
®	marca registrada
cm	centímetros
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
g	grama
Ig	Imunoglobulina
Kg	quilos
LDIC	Laboratório de Doenças Infectocontagiosas
mg	miligrama
ml	mililitros
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
SNC	Sistema Nervoso Central
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Canídeos silvestres no Brasil	13
2.2 <i>Cerdocyon thous</i>	13
2.3 <i>Neospora caninum</i>.....	16
2.4 Infecção por <i>Neospora caninum</i> em <i>Cerdocyon thous</i>	19
2.5 <i>Toxoplasma gondii</i>	19
2.6 Infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em <i>Cerdocyon thous</i>	22
2.7 Diagnóstico <i>Neospora caninum</i> e <i>Toxoplasma gondii</i>	23
2.8 <i>Neospora caninum</i> e <i>Toxoplasma gondii</i> em animais de produção.....	24
2.9 <i>Neospora caninum</i> e <i>Toxoplasma gondii</i> no estado de Alagoas.....	26
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
4 ARTIGO CIENTÍFICO.....	29
Frequência de <i>Neospora caninum</i> e de <i>Toxoplasma gondii</i> em Cachorro-do-Mato (<i>Cerdocyon thous</i>, Linnaeus, 1776) no estado de Alagoas, Brasil.	29
REFERÊNCIAS	38
ANEXOS	47

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma grande biodiversidade de fauna e flora que tem sido ameaçada pela interferência humana, tais como: desenvolvimento de atividades agrícolas em áreas naturais, invasão, desmatamentos e queimadas, provocando destruição e fragmentação dos habitats naturais dos animais silvestres. Os resultados destas interferências podem resultar em consequências diretas à saúde destas espécies e do meio ambiente, levando a exposição e disseminação de patógenos, alterações no equilíbrio ecológico, escassez de alimentos, atropelamentos nas rodovias e redução das populações de animais selvagens (DASZAK et al., 2001; SILVA et al., 2004; FIORELLO et al., 2006; NUNES, 2007; ACOSTA et al., 2016; VÉLEZ et al., 2017).

Os animais selvagens desempenham um papel importante na transmissão de agentes infecciosos. A presença de canídeos em áreas comuns a animais domésticos e o homem, constitui uma importante fonte de infecção, favorecendo a exposição de patógenos, podendo levar a consideráveis perdas econômicas e impactos à saúde pública (JORGE et al., 2010).

A Neosporose e Toxoplasmose são exemplos de doenças comuns a animais domésticos e selvagens, são enfermidades parasitárias causadas por *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*, respectivamente (DUBEY, 1977; DUBEY et al., 2002). Estudos relataram a ocorrência de *N. caninum* e *T. gondii* em canídeos selvagens, ressaltando a importância destas espécies na cadeia epidemiológica desses agentes (NASCIMENTO et al., 2015; ALMEIDA et al., 2017).

A transmissão de *N. caninum* e *T. gondii* se dá pela ingestão de água e alimentos contaminados por oocistos esporulados liberados no ambiente pelo hospedeiro definitivo (LARSON et al., 2004). Contudo, a prevalência da infecção vai depender de diversos fatores, tais como: padrões culturais da população, hábitos alimentares, clima, idade, procedência rural ou urbana, entre outros (AMENDOEIRA et al., 1999).

O hábito alimentar dos canídeos selvagens compostos basicamente de carne de pequenos animais como coelhos, roedores e pequenos ruminantes, favorecem a infecção por *N. caninum* e *T. gondii* e os torna possíveis reservatórios para esses agentes infecciosos (SILVA, et al., 2004; NASCIMENTO et al., 2015; ALMEIDA et al., 2017). A transmissão pode ocorrer pela ingestão de tecidos dos hospedeiros intermediários que possuam cistos teciduais contendo bradizoitos ou ingestão de água contaminada contendo oocistos esporulados (LINDSAY et al., 1996).

Cerdocyon thous é um canídeo selvagem que apresenta uma ampla distribuição geográfica. É popularmente conhecido como cachorro-do-mato, raposa, lobinho, lobete e graxaim do mato (SILVA et al., 2004). Na região Nordeste do Brasil, o cachorro-do-mato já foi identificado como hospedeiro intermediário de *T. gondii*, demonstrando a existência de um ciclo silvestre nesta região (ALMEIDA et al., 2017). Estudos relatam a participação de alguns canídeos silvestres como hospedeiro definitivo para *N. caninum*, evidenciando a participação desses animais na epidemiologia deste patógeno (SEIMENIS, 2008).

O DNA de *T. gondii* foi descrito em um cachorro-do-mato em Pernambuco por Almeida et al. (2017) e no cérebro de uma raposa-do-campo por Nascimento et al. (2015), demonstrando estes canídeos como possíveis fontes de infecção capazes de infectar seres humanos e ocasionar problemas reprodutivos em animais de produção. É difícil a identificação de *N. caninum* e *T. gondii* em canídeos silvestres, tornando escassos os estudos relacionados à ocorrência destes patógenos nestas espécies (DUBEY; SCHARES, 2011; CABRAL et al., 2013; CAÑÓN-FRANCO et al., 2013; ALMEIDA et al., 2017). O estudo da epidemiologia de *N. caninum* e *T. gondii* em animais silvestres é importante para obter um melhor entendimento acerca dos fatores de risco para animais de produção presentes no ambiente (SAWADOGO et al., 2005).

A presente revisão aborda aspectos gerais da neosporose e toxoplasmose, e estas enfermidades em canídeos silvestres. Diante disso, objetivou-se neste trabalho pesquisar *N. caninum* e *T. gondii* em tecidos e fezes de cachorro-do-mato no estado de Alagoas, Brasil.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Canídeos silvestres no Brasil

A Família Canidae apresenta ampla distribuição geográfica e estão classificados em três sub-famílias: *Otocyoninae*, *Symocioninae* e *Caninae*. Na América do Sul, a Ordem carnívora possui nove espécies de canídeos selvagens registradas. No Brasil é relatada a existência de seis espécies: *Atelocynus microtis* (cachorro-de-orelhas-curtas), *Chrysocyon brachyurus* (lobo-guará), *Speothos venaticus* (cachorro-vinagre), *Cerdocyon thous* (cachorro-do-mato), *Lycalopex vetulus* (raposa-do-campo) e *Lycalopex gymnocercus* (cachorro-do-campo) (PESSUTI et al., 2001).

Os mamíferos da ordem carnívora compõem grupos predominantes de predadores vertebrados, apresentam hábitos alimentares carnívoros, comportamento solitário e possuem a capacidade de adaptação a variados ambientes nos ecossistemas terrestres (HENNEMAN III; THOMPSON; KONECNY, 1983; PITMAN et al., 2002; LEMOS et al., 2007). Os canídeos selvagens são importantes na cadeia epidemiológica de *N. caninum* e *T. gondii*, pois devido aos seus hábitos generalistas, se deslocam para áreas comuns a homens e animais domésticos em busca de alimentos, favorecendo a disseminação destes parasitos (CHOMEL et al., 2007).

2.2 *Cerdocyon thous*

Hábitos e características

O cachorro-do-mato foi o primeiro canídeo sul-americano descrito na literatura por Linnaeus (1766). É um canídeo de porte médio, amplamente distribuído na América do Sul, com exceção da bacia Amazônica. Possui hábitos generalistas e podem ser vistos em diversos biomas, normalmente são encontradas em savanas, áreas abertas, campos e cerrados. São observados com frequência em áreas habitadas pelos homens, nas margens de estradas e rodovias em busca de alimentos e restos de animais atropelados e, por isso, são frequentemente vítimas de atropelamentos (BAGATINI, 2006; CORRÊIA et al., 2009; LEMOS et al., 2007; REZINI, 2010).

Apresenta hábitos noturnos e crepusculares, em geral, são encontrados sozinhos ou em pequenos grupos de dois a cinco indivíduos, raramente caçam em pares (BRADY, 1979; LEMOS *et al.*, 2007). Demarcam território urinando em arbustos e por meio de vocalização (MACDONALD; COURTENAY, 1996). Apresentam hábitos monógamos, com gestação em torno de 52 a 59 dias, parindo três a seis filhotes com 120-160g cada. O cachorro-do-mato apresenta comportamento generalista, é flexível em relação à dieta e habitat, adaptam-se fácil as modificações resultantes da ação humana. Sua dieta onívora pode variar de acordo com a oferta, estação do ano e habitat, mas normalmente alimentam-se de frutas, pequenas aves, insetos, crustáceos (caranguejos de rios), répteis, anfíbios, ovos e pequenos roedores. (FACURE; MONTEIRO-FILHO, 1996; FACURE *et al.*, 2003; BUENO; MOTTA, 2004; COURTENAY; MAFFEI, 2004; GATTI *et al.*, 2006). Pode alimentar-se de carcaça de animais domésticos, como bovinos, favorecendo a transmissão de agentes patogênicos comuns a estes animais (LEMOS *et al.*, 2011).

Possuem pelo com uma coloração variável, apresentando tons de cinza e marrom, comumente com tons de amarelo. Medem aproximadamente 65 cm de comprimento, seu peso varia entre 5 a 8 kg. Suas orelhas são curtas com tons avermelhados. Cauda relativamente longa, em torno de 30 cm, com pelos compridos pendendo para uma coloração preta e focinho comprido (Figura 1). Essa espécie é bastante semelhante à raposa-do-campo (*Lycalopex vetulus*), canídeo que vive na Europa (Figura 2) (LEMOS *et al.*, 2011; BEISIEGEL *et al.*, 2013).

Figura 1 *Cerdocyon thous*



Fonte: adrianogambarini.com (2018)

Figura 2 *Lycalopex vetulus*



Fonte: procarnivoros.org.br (2018)

Ameaça de extinção

Até o momento o cachorro-do-mato não consta na lista das espécies ameaçadas de extinção no Brasil, existindo em abundância na natureza (LUCHERINI, 2015). Uma das principais ameaça a esta espécie está relacionada às doenças transmitidas por animais domésticos, devido o deslocamento do seu habitat natural para áreas com presença de potenciais fontes de infecção, como cães, gatos e bovinos (BEISIEGEL et al., 2013).

Interação entre Vida Urbana e Silvestre

A interferência do homem em ambientes naturais tem provocado uma maior exposição dos animais silvestres a agentes infecciosos, esta exposição está relacionada à proximidade do homem a áreas naturais, favorecendo a transmissão de agentes patogênicos comuns a população humana e de animais domésticos (CATENACCI et al., 2010).

O processo de urbanização e interferência do homem nos habitats naturais dos animais silvestres, tais como: expansão das populações humanas, redução dos habitats, caça ilegal, poluição, desmatamento, queimada, invasão e alteração do ambiente natural cada vez mais fragmentado pela ação do homem, contribuem para destruição dos habitats destes animais. Dessa forma, afetando diretamente as populações dos canídeos, levando a fuga destes para áreas urbanas, favorecendo a proximidade dos animais silvestres a populações humanas e de animais domésticos (PATZ et al., 2000; CORRÊA; PASSOS, 2001; DASZAK et al., 2001; COURTENAY; MAFFEL; 2004; PEARCE- DUVET, 2006; TROVATTI, 2007). A propagação de agentes patogênicos em animais silvestres contribui para a transmissão de doenças infecciosas em animais de produção e ao homem, podendo levar a problemas reprodutivos, consideráveis perdas econômicas e impactos a saúde pública (CHOMEL et al., 2007). Essas espécies podem atuar como sentinelas no ambiente, servindo como indicadores de contaminação ambiental, auxiliando na identificação de patógenos presentes no ambiente (AGUIRRE, 2009).

O estudo da epidemiologia do ciclo silvestre de *N. caninum* e *T. gondii* vêm aumentando nos últimos anos, sobretudo após a confirmação do coiote norte-americano (*Canis latrans*), dingo Australiano (*Canis lupus dingo*) e lobo cinza (*Canis lupus*), como hospedeiros definitivos para *N. caninum*, após observação dos oocistos nas fezes destes animais (DUBEY, 1996; GONDIM et al., 2004; GONDIM; MCALLISTER, 2005).

A infecção também foi confirmada em cervos (*Odocoileus virginianus*) nos Estados Unidos, ressaltando a importância dos animais silvestres na epidemiologia de *N. caninum* e o seu papel como possíveis disseminadores da infecção para animais de produção em área com altas concentrações de animais silvestres, contudo, a presença dos animais silvestres no ciclo da neosporose ainda não foi completamente elucidada, sendo necessários mais estudos para identificar a participação desse agente no ciclo silvestre desta enfermidade (BARLING et al., 2000; VIANNA et al., 2005). O diagnóstico precoce e a identificação destes patógenos no ambiente são fundamentais para identificação dos principais fatores de risco para animais domésticos e de produção (MÖRNER et al., 2002; JORGE et al., 2010).

2.3 *Neospora caninum*

Histórico

A descoberta de *N. caninum* foi descrita pela primeira vez em 1984 por. Bjerkås, Mohn e Presthus que relataram a existência de um parasito intracelular formador de cistos teciduais em seis cães da raça boxer com histórico de distúrbios neurológicos que apresentavam lesões no sistema nervoso central (SNC) e músculos esqueléticos. Na necropsia, foram observadas lesões inflamatórias em todas as partes do SNC e nos músculos esqueléticos. Inicialmente sua identificação foi erroneamente confundida como *Toxoplasma gondii*, por apresentar fases evolutivas e características fenotípicas semelhantes, mas, os resultados foram negativos após realização de diagnóstico laboratorial, descartando a relação com *T. gondii* (BJERKAS et al., 1984). Posteriormente, Dubey et al. (1988), observaram diferenças morfológicas e imunohistoquímicas entre *T. gondii* e o novo parasita descoberto, causando sintomatologia mais severa que o *T. gondii* atribuindo-lhe um novo gênero *Neospora* e espécie *N. caninum* (BJERKAS; DUBEY, 1991; DUBEY; LINDSAY, 1993, 1996).

Agente etiológico

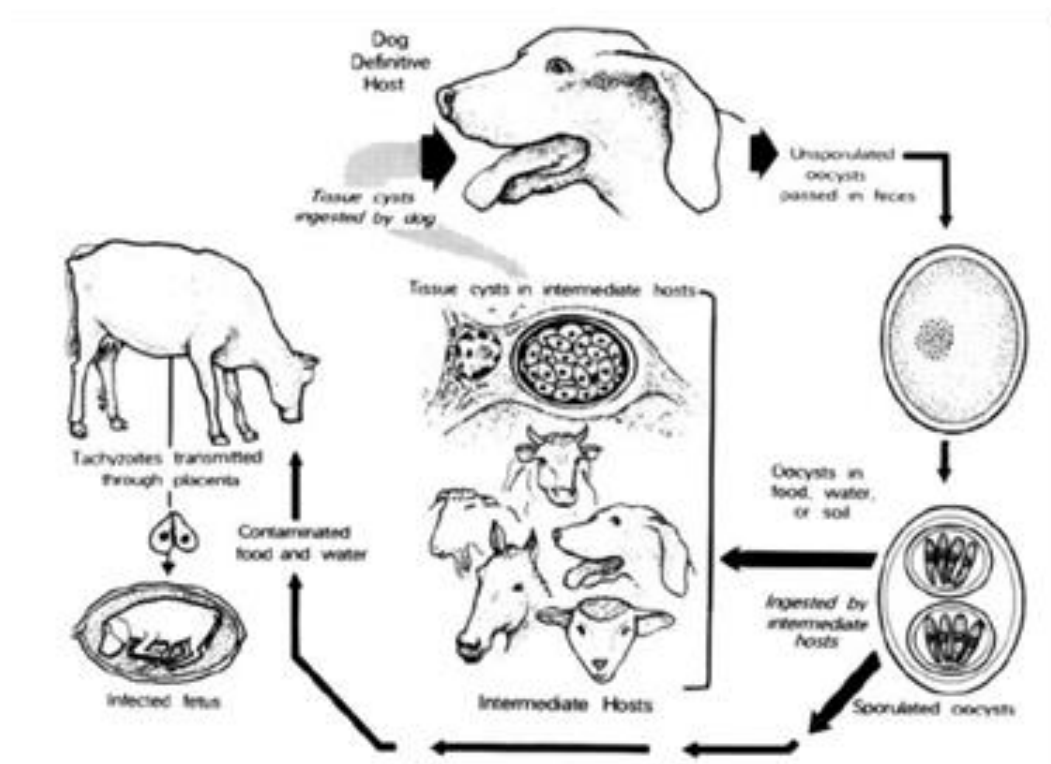
É um protozoário intracelular obrigatório, pertencente ao filo *Apicomplexa*, classe *Sporozoea*, ordem *Eucoccidiida* e família *Sarcocystidae* (DUBEY, 1977; DUBEY et al., 2002). Apesar da semelhança fenotípica com *T. gondii*, *N. caninum* apresenta características

biológicas, estruturais e antigênicas distintas (MUGRIDGE et al., 1999; SLAPETA et al., 2002).

Ciclo biológico

N. caninum apresenta um ciclo biológico complexo, que envolve a participação de hospedeiros intermediários e definitivos, com duas fases distintas de reprodução: a fase assexuada que ocorre nos tecidos dos hospedeiros intermediários e definitivos e a fase sexuada que ocorre no epitélio intestinal dos hospedeiros definitivos, que são os únicos capazes de eliminar oocistos nas fezes contaminando o ambiente (Figura 3) (DUBEY et al., 2007).

Figura 3: Ciclo biológico de *N. caninum*

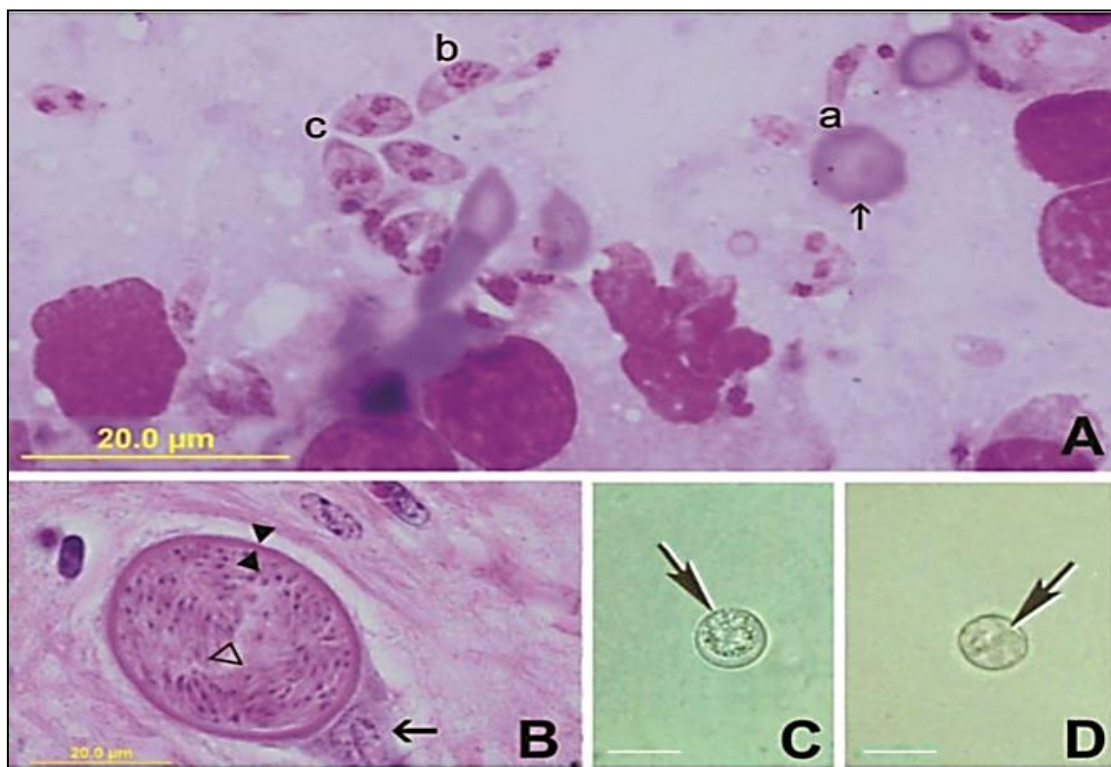


Fonte: Dubey; Schares; Ortega-Mora (2007).

O ciclo de vida envolve três estágios infectantes: os taquizoítos, bradizoítos e oocistos. Os taquizoítos são caracterizados pela forma proliferativa de multiplicação rápida; são responsáveis pela fase aguda da infecção, sendo encontrada em qualquer célula do hospedeiro

intermediário e em células epiteliais dos hospedeiros definitivos. Apresentam forma de meia-lua, medindo aproximadamente de 2 x 6 μm (Figura 4A). Os bradizoítos que estão presentes nos cistos teciduais, morfologicamente semelhantes aos taquizoítos, caracterizados pela multiplicação lenta, em geral apresentam forma arredondada ou oval, com aproximadamente 107 μm de comprimento, e são encontrados principalmente no sistema nervoso central. (Figura 4B). Os oocistos, caracterizados pela forma resistente do parasito liberados nas fezes do hospedeiro definitivos na forma não esporulada (Figura 4C) (DUBEY et al., 1998; DUBEY et al., 2007). Os oocistos maduros contêm dois esporocistos (Figura 4D) e oito esporozoítos que são as formas infectantes para os mamíferos e aves e também para o ser humano (DUBEY et al., 2007).

Figura 4: Estágios evolutivos *N. caninum*, A: Taquizoítos; B: Cisto tecidual contendo Bradizoítos; C,: Oocistos não esporulados. D: oocistos esporulados contendo dois esporocistos.



Fonte: Dubey et al. (2007)

N. caninum apresenta estrutura semelhante a *T. gondii*, contudo, a neosporose é uma doença que acomete primariamente os bovinos e os canídeos são os hospedeiros definitivos para este agente, em contrapartida, *T. gondii*, afeta primariamente os caprinos, ovinos e humanos e os felídeos são os seus únicos hospedeiros definitivos.

Acometem diversas espécies de animais domésticos e selvagens, entre os hospedeiros definitivos de *Neospora caninum* estão o cão (*Canis lupus familiaris*), coiote (*Canis latrans*), dingo (*Canis lupus dingo*) e lobo cinza (*Canis lupus*) (MCALLISTER et al., 1998; DUBEY et al., 2002; DUBEY; SCHARES, 2011). Os bovinos são os hospedeiros intermediários mais acometidos por *N. caninum*, mas pode acometer ovinos, caprinos, equinos, cervídeos, búfalos, pardais e galinhas, raposa - do - campo (DUBEY, 1988; THILSTED, 1989; BARR et al., 1991; DUBEY, 1992; LINDSAY, 1996; MARSH et al., 1996; DUBEY, 1999; CORBELLINI et al., 2001; DUBEY, 2003; COSTA et al., 2008; GONDIM et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2015).

2.4 Infecção por *Neospora caninum* em *Cerdocyon thous*

Os estudos com canídeos selvagens demonstram que existe a possibilidade do cachorro-do-mato ser hospedeiro definitivo de *N. caninum*, sobretudo após a descoberta da participação de outros canídeos silvestres como hospedeiros definitivos, contribuindo assim, para a transmissão e manutenção da enfermidade no ambiente (MCALLISTER et al., 1998; BARLING et al., 2000; GONDIM et al., 2004; LINDSAY; ROSYPAL, 2005; DUBEY; SCHARES, 2011). A exposição a fatores de risco como a presença de hospedeiros definitivos em áreas comuns a canídeos favorecem a transmissão horizontal para estes animais e a propagação para animais de produção (DUBEY et al., 2007).

Anticorpos anti- *N. caninum* foram identificados em amostras de soro de cachorro-do-mato, demonstrando a circulação deste parasito nesta espécie (CAÑÓN-FRANCO et al. 2004). Nascimento et al. (2015) relataram a identificação do DNA de *N. caninum* em estudo realizado em raposa-do-campo na Paraíba, evidenciando a existência de um ciclo silvestre entre os canídeos silvestres.

Diferente de *T. gondii*, o potencial zoonótico de *N. caninum* ainda não foi totalmente elucidado, mas, estudos realizados em humanos, relataram a identificação de anticorpos anti *N. caninum*, levantando a hipótese do potencial zoonótico deste protozoário em humanos (DUBEY et al., 2007; BENETTI et al., 2009).

2.5 *Toxoplasma gondii*

Devido à significativa importância tanto na medicina humana, quanto na veterinária, *T. gondii* é um dos parasitos mais estudados em todo o mundo (DUBEY, 2010). É responsável pela toxoplasmose, uma importante zoonose de distribuição mundial, sendo uma das enfermidades parasitárias mais comuns ao homem e animais domésticos (DUBEY; BEATTIE, 1988; TENTER et al., 2000. Estima-se que um terço da população humana já foi exposta a este protozoário (JACKSON; HUTCHISON, 1989; DUBEY, 1998; TENTER, 2000).

Histórico

Toxoplasma gondii foi descrito pela primeira vez em 1908, por Charles Nicolle e Louis Manceaux que notificaram a descoberta de um parasita intracelular obrigatório no baço e fígado de um roedor africano da espécie *Ctenodactylus gundi*. Ainda em 1908, Splendore relatou a descoberta de um parasito com as mesmas características em coelhos de laboratório (SPLENDORE, 2009). A princípio acreditou que se tratava de *Leishmania*. Posteriormente, Nicolle e Manceaux, em 1909, constataram que se tratava de um novo organismo e o nomeou *Toxoplasma gondii*, baseado na sua morfologia (toxon = arco; plasma = forma) devido à forma alongada, encurvada em arco na sua fase de multiplicação no interior de macrófagos (REY, 1991; DUBEY; MANCEAUX, 2009).

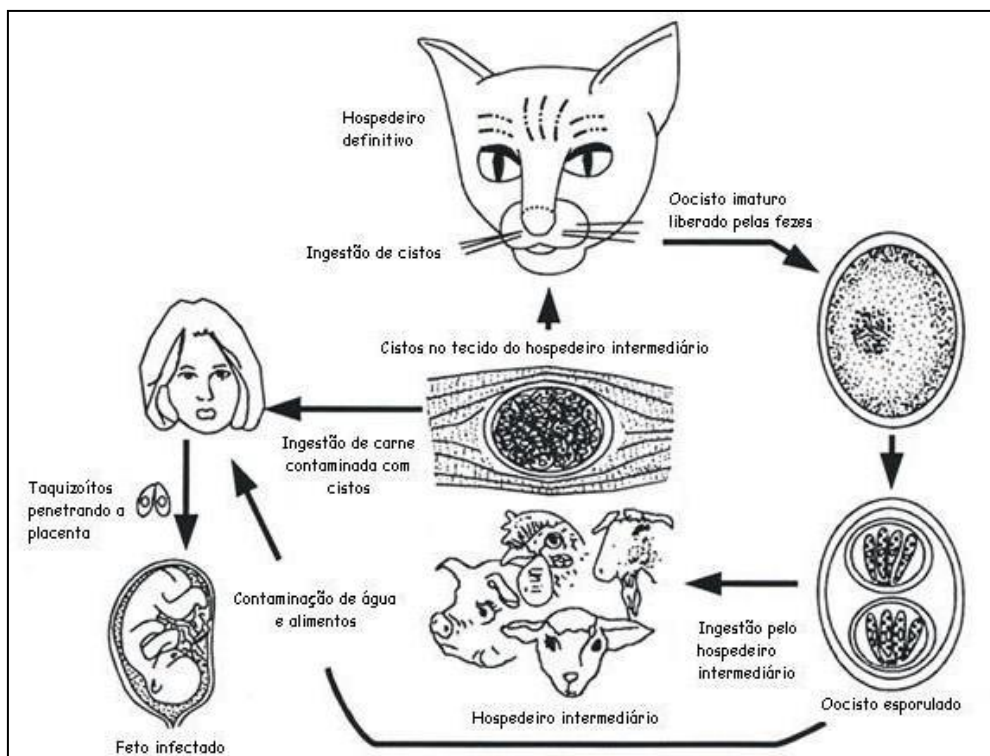
Agente etiológico

Toxoplasma gondii é um protozoário parasita intracelular obrigatório, formador de cistos teciduais, pertencente ao filo *Apicomplexa*, sub-classe *Coccidia*, ordem *Eucoccidiida*, sub-ordem *Eimeriina*, família *Sarcocystidae* e subfamília *Toxoplasmatinae*. Possui uma gama de hospedeiros suscetíveis à infecção, incluindo os homens, aves, animais domésticos e silvestres. Os felídeos domésticos e selvagens são os únicos hospedeiros definitivos de *T. gondii*, por serem capazes de eliminar oocistos do protozoário em suas fezes. Apresenta como possíveis hospedeiros intermediários, bovinos, ovinos, caprinos, cervídeos, equinos, bubalinos, raposas e felinos, os quais desenvolvem a infecção após ingerirem oocistos esporulados presentes na água ou alimentos contaminados (DUBEY; BEATTIE, 1988; MCALLISTER et al., 1998; DUBEY, 2010).

Ciclo biológico

Toxoplasma gondii possui um ciclo de vida heteróximo, que envolve a presença de hospedeiros definitivos e intermediários (DUBEY et al., 2007). O ciclo biológico ocorre em duas fases distintas de reprodução: A fase assexuada, nos linfonodos e tecidos de mamífero e aves e a fase sexuada que ocorre somente nas células do epitélio intestinal dos hospedeiros definitivos (Figura 5) (DUBEY, et al., 1998; ROSYPAL; LINDSAY, 2005; FERGUSON, 2009).

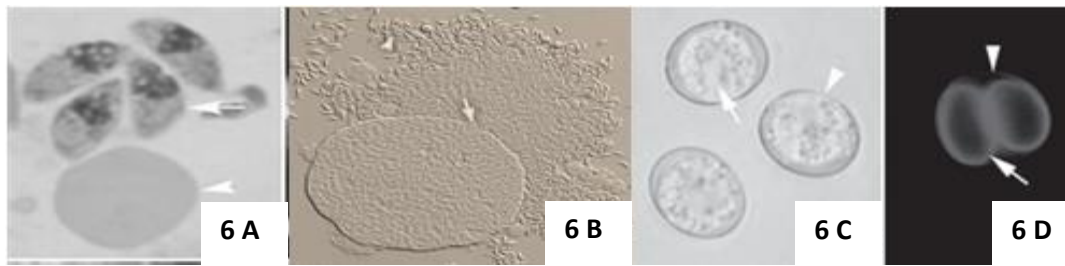
Figura 5: Ciclo biológico de *T. gondii*



Fonte: DUBEY et al. (1998).

Semelhante a *N. caninum*, o ciclo de vida envolve três estágios infectantes: os taquizoítos, caracterizado pela forma proliferativa de multiplicação rápida, sendo encontrados em qualquer célula do hospedeiro intermediário e em células epiteliais dos hospedeiros definitivos, representando a fase aguda da infecção. Após a fase aguda, a multiplicação torna-se mais lenta, caracterizando a fase crônica da infecção, sendo encontrados cistos teciduais, contendo bradizoítos (no interior de cistos) e os oocistos, contendo esporozoítos que são formados após reprodução sexuada e liberados nas fezes pelo hospedeiro definitivo. (Figura 6) (DUBEY et al., 1998).

Figura 6: Fases evolutivas *Toxoplasma gondii*. 6 A, Taquizoítos. 6 B, Bradizoítos. 6 C e D, Oocistos.



Fonte: Dubey, 2010

Vias de transmissão

A transmissão de *T. gondii* pode ocorrer por duas vias: horizontal, os hospedeiros se infectam após ingestão de alimentos ou água contaminada por oocistos esporulados presentes no ambiente, ingestão de cistos teciduais ou pode ser transmitida verticalmente, por via transplacentária os taquizoítos são carreados de uma mãe infectada para o feto via placenta.

A transmissão transplacentária pode ser classificada como exógena, caracterizada pela infecção primária proveniente da ingestão de oocistos esporulados, enquanto a transmissão transplacentária endógena é resultante da reativação da infecção de uma mãe persistentemente infectada (BUXTON et al., 2002; DUBEY, 2004; DUBEY et al., 2007). O hábito alimentar do cachorro-do-mato, composto basicamente de carne de pequenos animais como coelhos e roedores, favorece a transmissão da infecção (LINDSAY et al., 1996). Alguns estudos relatam que a exposição a fatores de riscos como, convívio em áreas comuns aos homens e animais domésticos, principalmente onde há presença de felinos domésticos, favorecem a transmissão (VITALIANO et al., 2004; FORNAZARI; LANGONI, 2014).

2.6 Infecção por *Toxoplasma gondii* em *Cerdocyon thous*

Pesquisas têm apontado a presença de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em *C. thous*, indicando a sua participação na epidemiologia dessa enfermidade, desta forma, o contato do cachorro-do-mato com populações humanas e animais domésticos, hábitos alimentares, facilita a exposição destes canídeos a fontes potenciais de infecção, favorecendo a transmissão da toxoplasmose entre os animais selvagens, provavelmente devido à frequente

ingestão de tecidos de outros animais contendo cistos do protozoário (GENNARI et al., 2004; DUBEY et al., 2010; FORNAZARI; LANGONI, 2014; PROENÇA et al., 2013).

Não há relatos que comprovem a importância dos animais selvagens na cadeia de transmissão *T. gondii*, contudo, a cultura de algumas regiões de consumir carne dessas espécies, pode constituir uma importante fonte de infecção para humanos (VITALIANO et al., 2004). Estudos relatam o isolamento de *T. gondii* em várias espécies de animais silvestres, especialmente em canídeos silvestres. Os canídeos silvestres são considerados bons indicadores de contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii*, atuando como sentinelas de infecções em humanos e animais de produção (GENNARI et al., 2004; NASCIMENTO et al., 2015; ALMEIDA et al., 2017).

O cachorro-do-mato frequentemente é vítima de caçadores e atropelamentos nas rodovias. Em muitas regiões do Brasil, sua carne é destinada para consumo humano e animal, sendo frequentemente ingeridas cruas ou mal cozidas, favorecendo a transmissão da infecção por *T. gondii* (CATENACCI et al., 2010).

2.7 Diagnóstico *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*

O diagnóstico laboratorial da infecção por *N. caninum* e *T. gondii* é realizado por meio de técnicas sorológicas, exame histopatológico dos tecidos, imunohistoquímica para identificação de parasitos tecidual e diagnóstico molecular (BASZLER et al., 1999). Lesões histopatológicas causadas por *N. caninum* no feto e placenta de bovinos são difíceis de serem diferenciadas das ocasionadas *T. gondii* (BUXTON et al., 2002). Faz-se necessário à realização de diagnóstico molecular e técnicas de imunohistoquímicas para melhor interpretação dos resultados e para distinguir os dois protozoários (BASZLER et al., 1999; PAGLIARI, 2001).

Os exames histológicos são amplamente empregados no diagnóstico destas enfermidades, principalmente em caso de aborto, pela análise histológica dos tecidos do cérebro, coração, fígado, placenta, fluido corporal e sangue do feto (DUBEY, 2005). Por meio da técnica de imunohistoquímica é possível identificar o parasito e as lesões, porém, pode ser é pouco sensível para detectar o parasito em tecidos hospedeiros quando o número de parasitos no tecido é baixo (LOPES, 1999).

As técnicas de moleculares, tais como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é baseada na identificação de agentes infecciosos com capacidade de amplificar fragmentos específicos do DNA do parasito a partir de pequenos fragmentos de tecidos da amostra

suspeita e secreções, sendo bastante empregada pela sua alta sensibilidade, especificidade e diagnóstico rápido (SINGH, 1997; SLAPETA et al., 2002; HURTADO et al., 2001). Uma vantagem da técnica é a capacidade de detectar o parasito, mesmo quando presente em pequenas quantidades (HURTADO et al., 2001).

No entanto, a sensibilidade e especificidade da PCR podem ser prejudicadas devido à seleção de iniciadores específicos para amplificação do DNA alvo, tais como a escolha dos protocolos adequados para coleta, acondicionamento da amostra, escolha correta dos reagentes (DUBEY; SCHARES, 2006; DUBEY, 2010). O DNA de *N. caninum* e *T. gondii* já foram detectados por meio da técnica de PCR em tecidos e fezes de canídeos silvestres (GONDIM, 2004; KING, 2010; DUBEY; SCHARES, 2011; NASCIMENTO et al., 2015; ALMEIDA et al., 2017).

O isolamento de *N. caninum* é difícil. Vários experimentos já foram realizados para isolar o protozoário através de bioensaio em camundongos ou cultura celular, mas não obtiveram sucesso. O isolamento em cultivo celular é demorado, podendo levar de 20 dias a dois meses para detecção do parasito (DUBEY; SCHARES, 2006). O diagnóstico eficaz contribui para compreensão dos vários aspectos da infecção e auxilia também na criação de medidas profiláticas e de controle.

A realização de exame coproparasitológico é importante para identificar a presença de oocistos de *N. caninum* e *T. gondii* nas fezes dos hospedeiros. Os oocistos dos protozoários podem ser detectados pelo método de Willis-Mollay, 1921 modificada (Flutuação em solução saturada de açúcar) que apresenta como princípio a concentração e flutuação de cistos e oocistos de protozoários e ovos leves de helmintos em solução saturada de cloreto de sódio ou açúcar. É indicada para identificação de oocistos de coccídeos (*Cystoisopora*, *Sarcocystis*, *Toxoplasma*, *Neospora*).

No entanto essa técnica pode apresentar resultados falsos negativos para *T. gondii*, pois os felídeos produzem oocistos morfolologicamente semelhantes a infecções por *Besnoitia* e *Hammondia*, sendo necessária a realização da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), para diferenciar o DNA de *T. gondii* de outros organismos semelhantes.

2.8 *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em animais de produção

Neosporose e toxoplasmose são infecções parasitárias responsáveis por ocasionar consideráveis perdas econômicas em animais de produção e tem sido associada a casos de

aborto, retenção de placenta, retorno ao estro, aumento dos intervalos entre partos, baixa produção, retardo no crescimento e nascimento de animais debilitados, levando a prejuízos econômicos aos produtores (TENTER et al, 2000; LARSON et al., 2004; DUBEY E SCHARES, 2006; DUBEY et al., 2007; LANGONI et al., 2011; SILVA et al., 2013; NICOLINO et al., 2015). Os suínos, bovinos, ovinos e caprinos são espécies comumente afetadas por *T. gondii* e podem atuar com potencias fontes de infecção para o homem. Dentre os animais de produção, os caprinos são os hospedeiros intermediários mais sensíveis para *T. gondii*. A transmissão vertical por *N. caninum* é a via mais eficiente em bovinos (DUBEY et al., 2007; ANSARI- LARI et al., 2017).

Em estudo realizado no estado de Alagoas, Pinheiro Jr et al. (2009), relatam a alta prevalência para *T. gondii* em ovinos, demonstrando exposição dos animais de produção a este agente e relatando alta contaminação ambiental presente na região. Achados semelhantes ao de Magalhães et al. (2016), que relataram uma maior prevalência de *T. gondii* em ovinos quando comparados a bovinos. Os bovinos são os hospedeiros intermediários mais acometidos por *N. caninum*, estima-se que aproximadamente 20% de todos os abortos que ocorrem no Brasil, estão relacionados a esta infecção. (ROMERO; FRANKENA, 2004; PINHEIRO et al., 2013).

Estima-se que os prejuízos econômicos ocasionados por *T. gondii* pode originar prejuízos em torno de mais de um bilhão de dólares em todo o mundo. No entanto, os problemas relacionados à *T. gondii* não estão restritos apenas a perdas econômicas, a infecção resulta em grandes problemas para saúde pública, uma vez que animais infectados possuem grande quantidade de cistos teciduais do parasita em variados órgãos e músculos, podendo transmitir para seres humanos pelo consumo de sua carne crua ou mal cozida (DUBEY; BEATTIE, 1988; SILVA et al., 2003; MILLAR et al., 2008; DUBEY, 2010).

O papel dos animais silvestres na epidemiologia da neosporose ainda não foi completamente elucidado, contudo, estudos associam o aumento da prevalência da infecção em bovinos a áreas com altas concentrações de canídeos silvestres (BARLING et al., 2000). Estudos relatam a identificação de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em *C. thous*, indicando a circulação deste agente entre os canídeos silvestres (GENNARI et al., 2004; CATENACCI et al., 2010).

A neosporose é umas das doenças parasitárias que mais ocasionam problemas reprodutivos em animais de produção, sua importância econômica está atribuída principalmente a casos de abortos, redução na produção de leite, descarte e reposição de animais (LARSON et al., 2004; MELO et al., 2008; MACHADO et al., 2011). Em estudo

realizado com vacas naturalmente infectadas, Mansari-Lari et al. (2017), relataram que a incidência de aborto é maior em vacas infectadas com *N. caninum*, quando comparados a vacas soronegativas. Bezerros provenientes de vacas congenitamente infectadas podem nascer clinicamente normais, mas, persistentemente infectados, contribuindo para a manutenção da enfermidade nos rebanhos (DUBEY et al., 1988; LOPES, 1999; ANDERSON et al., 2000; CORBELLINI et al., 2002; FORTUNATO et al., 2010; PANADERO et al., 2010; DIAS, 2014).

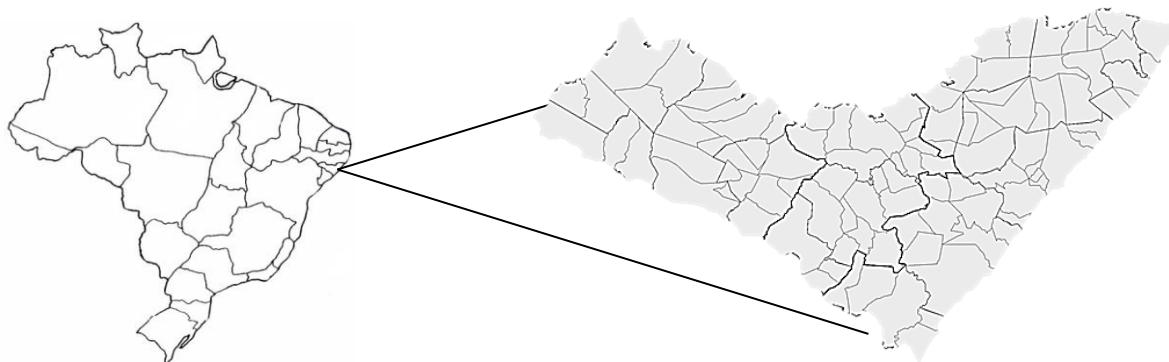
Estudos relatam a identificação de anticorpos anti-*N. caninum* em cachorro-do-mato no Brasil, indicando que existe a possibilidade de que esta espécie de canídeo também atue como hospedeiro definitivo deste parasito (CAÑÓN-FRANCO et al., 2002; MATTOS et al., 2008; ANDRE et al., 2010). O ciclo silvestre de *N. caninum* ressalta a importância dos canídeos na epidemiologia da doença e o impacto econômico que causa nos rebanhos, principalmente nas criações extensivas (GONDIM, 2005). Estudos associam uma maior prevalência de *N. caninum* em rebanhos bovinos em áreas com maior concentração de canídeos silvestres BARLING et al., 2000; ALMERIA et al., 2002; GONDIM et al., 2004; ROSYPAL; LINDSAY, 2005).

2.9 *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* no estado de Alagoas.

O Estado de Alagoas está localizado na região Nordeste do Brasil. Apresenta uma área de 27,8 mil Km² e uma de 3.340.932 habitantes. O Estado é dividido em 102 municípios e três mesorregiões: Mesorregião do Agreste Alagoano. Mesorregião do Leste Alagoano. Mesorregião do Sertão Alagoano.

N. caninum e *T. gondii* estão largamente distribuídas em todo mundo, embora o estudo de zoonoses parasitárias em animais selvagens ainda seja escasso. *Cerdocyon thous* é amplamente distribuído no estado de Alagoas, Brasil, sendo constantemente vítima de atropelamentos em diferentes áreas nas rodovias (Figura 7).

Figura 7- Mesorregiões de Alagoas, Brasil.



Fonte: Alagoas em dados e informações– Mesorregiões do Estado de Alagoas. 2013.

T. gondii foi relatado em ovinos em diferentes regiões no estado de Alagoas, Brasil. Anticorpos anti-*T. gondii* foram identificados em cabras em diferentes municípios por meio de técnicas sorológicas, demonstrando que a infecção por este parasito está disseminada na região. A alta prevalência em algumas regiões pode ser decorrente do clima e temperatura favorável da região que propiciam um ambiente adequado para manutenção dos oocistos (ANDERLINI et al., 2011). Pinheiro Jr et al. (2009), realizaram um estudo associando a alta prevalência para *T. gondii* em ovinos ao tipo de manejo e exploração, clima, exposição dos animais de produção a hospedeiros definitivos e alta contaminação ambiental com parasita na região. Almeida et al. (2018), identificaram anticorpos anti- *N. caninum* e anti- *T. gondii* em um cachorro-do-mato no estado de Alagoas. Desta forma, pesquisa de agentes com potencial zoonóticos, principalmente os parasitários entre canídeos selvagens no estado de Alagoas é importante devido à presença destas espécies na região.

Estudos semelhantes realizados com *N. caninum* em ovinos relata possível associação entre perdas reprodutivas nos rebanhos a presença de cães em áreas rurais e contaminação ambiental por oocistos. (FARIA et al., 2010; SOUSA et al., 2012). Em pesquisa realizada em matadouro, Amaral et al. (2012), descreveram uma prevalência de 9,3% (16/ 173) para *N. caninum* em vacas abatidas e 18,6 % (5/27) em soro fetais, no Município de Viçosa, Alagoas, demonstrando possível associação deste parasito a casos de aborto no rebanho.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neospora caninum e *Toxoplasma gondii* são parasitos com ampla distribuição e alta prevalência em todo mundo, acomete uma variedade de animais domésticos e selvagens, são responsáveis por ocasionar importantes problemas reprodutivos, sendo uma das principais causas de aborto em animais de produção. Estudos relativos à epidemiologia da toxoplasmose e neosporose são necessários, tendo em vista sua patogenicidade em animais de produção e de companhia.

Ressalta-se ainda que o cachorro-do-mato é um canídeo com ampla distribuição geográfica, sendo relativamente abundante e tolerante a perturbações ambientais resultantes da ação humana, seus hábitos generalistas possibilitam habitar uma variedade de ambientes em busca de alimentos. De forma geral, preferem ambientes abertos e bordas de rodovias, sendo constantemente vítimas de atropelamentos nas rodovias.

Devido a constante ação dos homens nos ambientes naturais destes canídeos e a consequente destruição dos seus habitats, estes animais buscam áreas em comum ao homem e outros animais domésticos, contribuindo para a circulação e disseminação de patógenos comuns, atuando como fontes de infecção e bons indicadores de contaminação ambiental para estes agentes, apesar de não ser hospedeiro definitivo, tem papel epidemiológico relevante nestas infecções.

Os resultados obtidos nesse estudo evidenciam a alta contaminação ambiental presente na região. A elevada prevalência para *T. gondii* pode ser decorrente da exposição do cachorro-do-mato em áreas comuns a humanos e animais domésticos, favorecendo a transmissão de patógenos comuns ao homem e animais.

Faz-se necessário a elaboração de estratégias epidemiológicas para prevenção da neosporose e toxoplasmose na cadeia de produção e um trabalho de conscientização dos produtores para melhor compreensão, controle e prevenção desta enfermidade, tais como, práticas de manejo adequadas, controle de roedores, felinos e cães nas instalações, educação sanitária. Portanto, estudos complementares devem ser considerados para melhor compreensão da epidemiologia da neosporose e toxoplasmose no estado de Alagoas, Brasil.

4 ARTIGO CIENTÍFICO

**Frequência de *Neospora caninum* e de *Toxoplasma gondii* em Cachorro-do-Mato
(*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1776) no estado de Alagoas, Brasil.**

**(artigo submetido no periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia
Qualis Capes A2).**

**Frequência de *Neospora caninum* e de *Toxoplasma gondii* em Cachorro-do-Mato
(*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1776) no estado de Alagoas, Brasil**

[Frequency of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in Crab-Eating Fox (*Cerdocyon
thous*, Linnaeus, 1776) in the state of Alagoas, Brazil.]

Pedrosa, M.C.¹, Leão Filho, W.F.B.¹, Oliveira, M.H.G.S.¹, Melo, R.P.B.², Parlamento, H.F.¹,
Porto, W.J.N.¹, Mota, R.A.², Nunes, A.C.B.T.¹ 2018.

¹ Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Alagoas, Fazenda São
Luíz, 57700-000, Viçosa, Alagoas, Brasil.

² Departamento de Medicina Veterinária, Laboratório de Doenças Infectocontagiosas dos
animais domésticos, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Manoel de Medeiros,
52171-900, Recife, PE, Brasil.

*Autor correspondente: Tel.:55 82 32141904. Endereço de e-mail:
annelise.nunes@vicosa.ufal.br

Resumo

Objetivou-se neste estudo pesquisar a infecção por *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em tecidos de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous* – Linnaeus, 1766) no estado de Alagoas. Foram recolhidos 30 animais encontrados mortos próximos às rodovias, mas utilizados 17 animais, sendo 13 adultos e quatro fetos. Foram coletados fragmentos de cérebro, coração, fígado, pulmão e intestino, para a pesquisa dos parasitos nos tecidos utilizando as técnicas de Reação de Cadeia da Polimerase (PCR) e Histopatologia. Foram coletadas fezes para a pesquisa de oocistos, através da técnica de Willis-Mollay modificada e exame direto. Na pesquisa para *T. gondii* a prevalência foi de 82,35% (14/17) na PCR, destes, 70,59% (12/17) foram amplificados em fragmentos do coração, 58,33% (7/12) em cérebro, 75% (3/4) em placenta e 33,33% (1/3) em fígado. Não foi observada a presença de cistos ou taquizoítos na histopatologia. Os exames coproparasitológicos foram negativos. Não houve resultado positivo para *Neospora caninum* em nenhuma das técnicas realizadas. Este é o primeiro estudo da ocorrência por *T. gondii* em cachorro-do-mato no estado de Alagoas, Brasil.

Palavras chaves: Neosporose, toxoplasmose, canídeos, Alagoas.

Abstract

The aim of this study was to research *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection in tissues of crab-eating foxes (*Cerdocyon thous*– Linnaeus, 1766) in the state of Alagoas Forest Zone. 30 animals found dead near highways were collected, but 17 animals were used, 13 of them were adults and four fetuses. For parasites research in tissues, brain, heart, liver, lung and intestine fragments were collected and the Polymerase Chain Reaction (PCR) and histopathology techniques were used. Feces were collected for the detection of oocysts, using the modified Willis-Mollay technique and direct examination. The research for *T. gondii* showed a 65,71% (23/36) prevalence in PCR, among these, (12/17) were amplified in heart fragments, (7/12) in brain fragments, (3/4) from placentas and (1/3) in liver fragments. There were no positive results for *Neospora caninum* in any of the techniques used. This is the first study of the occurrence of *T.gondii* in crab-eating foxes in the state of Alagoas, Brazil.

Keywords: Neosporose, Toxoplasmose, canids, Alagoas.

Introdução

Neosporose e toxoplasmose são enfermidades parasitárias causadas por *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*, protozoários intracelulares obrigatórios formadores de cistos teciduais, responsáveis por provocar significativa perda econômica e grande impacto à saúde pública no mundo. Estima-se que aproximadamente um terço da população mundial está acometida por *T. gondii*, principalmente indivíduos imunossuprimidos e gestantes, além de representar grande importância aos profissionais relacionados ao meio rural (Dubey *et al.*, 2002; Dubey, 2010). A variação na prevalência destas enfermidades podem ser atribuídas a região, clima, cultura, hábitos alimentares e grupos étnicos (Nardi Junior *et al.*, 2012).

Os cães (*Canis familiaris*) são os principais hospedeiros definitivos de *Neospora caninum* (Lindsay *et al.*, 1996; Mcallister *et al.*, 1998). Além dos cães, *N. caninum* tem sido relatado em coiotes (*Canis latrans*), dingo australiano (*Canis lupus dingo*), lobo cinza (*Canis lupus*) (Gondim *et al.*, 2004; King *et al.*, 2010; Dubey *et al.*, 2011). Os felídeos são os únicos hospedeiros definitivos para *T. gondii*, por serem capazes de eliminar oocistos nas fezes contaminando ambiente (Dubey, 2010). Estudos relatam que alta prevalência em animais de

produção para estas enfermidades podem estar associados à presença de hospedeiros definitivos em áreas comuns a estes animais (Rizzo *et al.*, 2017).

Os canídeos selvagens podem desempenhar papel importante na epidemiologia e manutenção destes agentes no ambiente e são considerados bons indicadores de contaminação ambiental. Em muitas regiões do Brasil é comum a prática de caça e o consumo de carne dos canídeos silvestres, favorecendo as chances de transmissão para humanos e animais domésticos, contudo, dados sobre a epidemiologia desses agentes em canídeos silvestres são escassos (Wolfe *et al.*, 2001; Gennari *et al.*, 2004; Catenacci *et al.*, 2010; Dubey, 2010; Pena *et al.*, 2011; Canon-Franco *et al.*, 2013). A infecção de *N. caninum* e *T. gondii* tem sido relatada em algumas espécies de canídeos silvestres no Brasil, evidenciando a importância dessas espécies na transmissão e manutenção desses agentes (Nascimento *et al.*, 2015; Almeida *et al.*, 2017), no entanto, isolados de *N. caninum* e *T. gondii* nunca foram identificados em cachorro-do-mato no estado de Alagoas, Brasil.

Considerando que o DNA de *N. caninum* e *T. gondii* já foi identificado em canídeos selvagens (Dubey, 2010; Costa *et al.*, 2012), neste seguimento, sendo o cachorro-do-mato um hospedeiro intermediário para estes agentes, pode-se considerar a hipótese dessa espécie ser também um hospedeiro definitivo. Diante disso, objetivou-se neste trabalho pesquisar *N. caninum* e *T. gondii* em tecidos e fezes de cachorro-do-mato no estado de Alagoas, Brasil.

Material e Métodos

Um total de 30 cadáveres de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) vítimas de atropelamentos foram recolhidos em diferentes trechos das rodovias no estado de Alagoas, Brasil. As coletas foram autorizadas pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (SISBIO Protocolo 58357).

Dos 30 cachorros-do-mato recolhidos, foram necropsiados 17 animais, sendo 13 adultos. Destes, eram nove machos e quatro fêmeas, uma estava prenhe de quatro fetos, dois machos e duas fêmeas. Os demais animais estavam inviáveis para processamento devidos o estado de autólise. Foram coletadas amostras de encéfalo, coração, fígado, pulmão, intestino delgado e fezes. As amostras dos órgãos foram mantidas sobre congelamento para realização da Reação em Cadeia da Polimerase e em formol tamponado a 10% para os exames histológicos. Quatro amostras de fezes foram processadas após a coleta.

Para diagnóstico molecular, as amostras dos tecidos do cérebro, coração, fígado e placenta foram submetidos à extração de DNA, utilizando-se Kit comercial Wizard Genomic DNA Purification (Promega®), seguindo o protocolo do fabricante.

Para amplificação do DNA de *T. gondii* foi realizado PCR nested em um só tubo, utilizando dois pares de primers externos TgNN1 (3'-5'CCTTTGAATCCCAAGCAAAACATGAG) e TgNN2 (3'-5'GCGAGCCAAGACATCCATTGCTGA) e os primers internos TgNP1 (5'-GTGATAGTATCGAAAGGTAT-3') e TgNP2 (ACTCTCTCTCAAATGTTCT 5'-3'), (Hurtado *et al.*, 2001), capazes de amplificar uma região de 227 pb da região. O controle positivo utilizado na reação foi proveniente de uma suspensão de taquizoítos de *T. gondii* (cepa ME49, 104 taquizoítos/mL) e para controle negativo foi utilizado água ultrapura. O DNA amplificado de *T. gondii* foi visualizado por eletroforese em gel de agarose a 2% corados com BlueGreen (LGC®Biotecnologia, Cotia, São Paulo, Brasil), visualizados por luz UltraVioleta (UV) e fotocomentados.

As amplificações do DNA de *Neospora caninum* foram realizadas utilizando-se os primers Np21 (5'-GTGCGTCCAATCCTGTAAC-3') e Np6 (5'-CAGTCAACCTACGTCTTCT-3') que amplificam a região Nc-5, que é uma sequência de repetição específica que apresenta elevada sensibilidade. Os produtos amplificados foram detectados por eletroforese em gel de agarose a 2%, corados com Blue Green (LGC®), visualizados através de luz UV e fotodocumentados.

No histopatológico, fragmentos de cérebro, coração, pulmão, fígado, placenta e intestino delgado foram cortados e desidratados em concentrações crescentes de álcool, clarificados, incluídos em parafina. Os blocos foram cortados em secções de 5 µm em micrótomo (LEICA RM 2125RT), fixadas em lâmina de vidro, desparafinadas, re-hidratadas, coradas com hematoxilina-eosina e examinadas a microscopia de luz.

Para diagnóstico coproparasitológico, as amostras de fezes foram coletadas diretamente do intestino grosso durante a necropsia. Após a coleta, as amostras foram processadas. O método de Willis-Mollay (1921) modificado (Flutuação em solução saturada de açúcar) foi realizado para pesquisa dos oocistos dos protozoários nas fezes. Para a realização de exame direto, as fezes foram diluídas em uma gota de solução fisiológica, homogeneizadas e examinadas ao microscópio, entre lâmina e lamínula. Ambas as leituras foram realizadas em microscopia de luz em aumento de 100 e 400x.

Resultados

O DNA de *Toxoplasma gondii* foi identificado em 82,35% (14/17) dos fragmentos de tecidos dos cachorros-do-mato pela técnica de PCR. Destes, 70,59% (12/17) amplificados em fragmentos de coração, 58,33% (07/12) em fragmentos de encéfalos, 75% (03/04) nas placentas analisadas e 33,33% (01/03) em amostras de fígado. Cinco animais apresentaram resultados positivos nos fragmentos de encéfalo e coração analisados. A fêmea que estava prenhe foi positiva na PCR para *T. gondii*, incluindo os quatro fetos e a placenta, sendo verificada a transmissão vertical desse protozoário. Todas as amostras foram negativas para *N. caninum*. No exame histopatológico não foram observados cistos ou taquizoítos de *N. caninum* e *T. gondii* em nenhum dos 88 fragmentos de tecidos analisados. Não foi possível analisar todos os tecidos dos 17 cachorros-do-mato, pois alguns tecidos não estavam viáveis para processamento. As lesões encontradas foram decorrentes dos traumas ocorridos nos atropelamentos, como congestão e hemorragia. Foram observados, nódulos parasitários contendo larvas de helmintos da classe Nematoda no pulmão de dois animais e a presença do parasito adulto no intestino delgado de um animal. Os exames coproparasitológicos foram realizados em quatro animais, pois apenas estes possuíam material suficiente. O resultado foi negativo para ambos os agentes.

Discussão

Não há dados suficientes sobre a identificação do DNA de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em canídeos silvestres no Brasil, a maior parte dos relatos são referentes à identificação de anticorpos por meio de técnicas sorológicas (Andre *et al.*, 2010; Catenacci *et al.*, 2010). Grande parte dos isolados de *T. gondii* no Brasil são de animais domésticos, pouco se sabe a respeito da genética de isolados de *T. gondii* e *N. caninum* em mamíferos silvestres no Brasil (Yai *et al.*, 2009).

A prevalência para *T. gondii* neste estudo corrobora com achados mais recentes realizados com canídeos silvestres no Brasil. Nascimento *et al.* (2015), relataram uma prevalência de 14, 3% em amostras de encéfalos de raposa-do-campo (*Pseudalopex vetulus*), indicando a circulação de *T. gondii* nessas espécies e reforçando a hipótese que esses animais possam atuar como possível fonte de infecção para seres humanos e outros animais domésticos.

Almeida *et al.* (2017), isolaram *T. gondii* do cérebro de um cachorro-do-mato no estado de Pernambuco, corroborando com o presente estudo, demonstrando a importância dessa espécie na epidemiologia do parasito. Vitaliano *et al.* (2014) isolaram o DNA de *T. gondii* em raposa-do-campo (*Pseudalopex vetulus*) no estado de São Paulo, demonstrando que

os canídeos silvestres atuam como hospedeiros intermediários e podem ser considerados como bons indicadores de contaminação ambiental por oocistos eliminados no ambiente.

O estado de Alagoas tem mostrado prevalências consideráveis para *T. gondii*, Fonseca *et al.* (2015), identificaram uma frequência em análise sorológica de 14,4% para *T. gondii* em equinos na região. Anderlini *et al.* (2011), relataram a ocorrência de 39% de anticorpos anti-*T. gondii* em amostras de caprinos. Já Pinheiro Jr *et al.* (2009), relataram uma frequência de 32,9% de anticorpos anti-*T. gondii* em amostras de ovinos no estado de Alagoas. A elevada prevalência em *C. thous* demonstra alta contaminação ambiental presente na região. Os resultados positivos nos fetos analisados ressaltam a importância da transmissão vertical da infecção por *T. gondii* em canídeos.

Semelhantes aos achados de Nascimento *et al.* (2015) e Almeida *et al.* (2017), os isolados de *T. gondii* foram provenientes de tecido cerebral e coração, corroborando com esse estudo que detectou uma prevalência de 70,59% (12/17) amplificados em fragmentos de coração, 58,33% (07/12) em fragmentos de encéfalos. Os resultados nesse estudo demonstram a alta contaminação ambiental na região e reforçam a importância do cachorro-do-mato na manutenção e disseminação do agente no ambiente. A capacidade de adaptação a ambientes urbanos e o crescente processo de urbanização nos habitats naturais desse canídeo favorecem a interação entre populações humanas e animais domésticos.

O cachorro-do-mato é frequentemente vítima de atropelamentos nas rodovias, sua carcaça exposta no meio ambiente atua como potencial fonte de infecção para hospedeiros definitivos e intermediários. A alta prevalência nesta espécie pode ser explicada pela crescente interação entre esta espécie com populações humanas e de animais domésticos, favorecendo a exposição a fatores de riscos para a doença, como ingestão de tecidos contendo cistos, contaminação ambiental por oocistos e o contato com hospedeiros definitivos os torna mais susceptíveis a infecção (Almeida *et al.*, 2018).

A alta prevalência nos fetos analisados reforça a importância da transmissão vertical de *T. gondii* em animais e no homem. Estudos podendo levar a consideráveis perdas reprodutivas em animais de produção e implicações à saúde pública. Portanto, faz-se necessário a realização de mais estudos para uma maior compreensão da epidemiologia da doença (Vitaliano *et al.*, 2004).

Neste estudo não houve resultados positivos para *N. caninum*, semelhantes a outros estudos realizados em canídeos silvestres (Suteu *et al.*, 2014). Vitalino *et al.* (2014) isolaram *T. gondii* em tecidos de raposa vermelha (*Vulpes vulpes*) utilizando a técnica de PCR, mas não obtiveram resultados positivos para *N. caninum*. De Craeye *et al.* (2011) relataram uma maior

prevalência para *T. gondii* (18,8%) em relação a *N. caninum* que foi (6,6%). Almeida *et al.* (2012), descreveram que todas as amostras provenientes de lobo-guará foram negativas para *N. caninum*. Entretanto, esses resultados diferem de Cañon-Franco *et al.* (2004), que relataram evidências da infecção por *N. caninum* em canídeos selvagens brasileiros. Dubey *et al.* (2014) e Nascimento *et al.* (2015) isolaram *N. caninum* viáveis em amostras de cérebro de canídeos silvestres, demonstrando que estas espécies são hospedeiras intermediárias naturais para *N. caninum*.

O resultado negativo para *N. caninum* pode estar relacionado à baixa carga parasitária, contudo, este resultado não descarta a possibilidade do cachorro-do-mato ser um potencial hospedeiro definitivo para este agente. Mais estudos são necessários para a compreensão da epidemiologia do ciclo silvestre do *N. caninum* em áreas comuns a animais silvestres e domésticos.

Até o presente momento, não há relatos de identificação do DNA de *N. caninum* e *T. gondii* em cachorro-do-mato no estado de Alagoas. Os resultados encontrados demonstram que existe contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii* na região, sendo assim um risco potencial para a saúde humana e animal.

Conclusão

Conclui-se que a infecção por *T. gondii* ocorre em cachorros-do-mato naturalmente infectados no estado de Alagoas, sendo comprovada a transmissão vertical do parasito. Este é o primeiro relato da infecção de *T. gondii* em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) no estado de Alagoas.

Referências

- ALMEIDA CURI, N.H.; COELHO, C.M.; CAMPOS CORDEIRO MALTA, M. Pathogens of wild maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) in Brazil. *J. Wildl. Dis.*, v.48, p.1052-1056, 2012.
- ALMEIDA, J.C.; MELO, R.P.B.; PEDROSA, C.M. et al. First isolation and RFLP genotyping of *Toxoplasma gondii* from crab-eating fox (*Cerdocyon thous* – Linnaeus, 1766). *Acta Trop.*, v. 169, p. 26-29, 2017.
- ALMEIDA, J.C.; MELO, R.P.B.; KIM, P.C.P. et al. Molecular and serological investigation of infectious diseases in captive and free-range crab-eating fox (*Cerdocyon thous* – Linnaeus, 1776) from northeastern Brazil. *Acta Parasitol.*, v. 63, n. 1, p.184–189,

2018.

ANDERLINI, G. A.; MOTA, R. A.; FARIA, E.B. et al. Occurrence and risk factors associated with infection by *Toxoplasma gondii* in goats in the State of Alagoas, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.*, v. 44, n. 2, p. 157-62, 2011.

ANDRÉ, M.R.; ADANIA, C.H.; TEIXEIRA, R. H. F. et al. Antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in captive neotropical and exotic wild canids and felids. *J Parasitol.*, v. 96, p. 1007-1009. 2010.

CAÑÓN-FRANCO, W.A.; YAI, L.E.O; SOUZA S.L. P. et al. Detection of antibodies to *Neospora caninum* in two species of wild canids, *Lycalopex gymnocercus* and *Cercdocyon thous* from Brazil. *Vet Parasitol.*, v. 123, p. 275–277, 2004.

CAÑÓN-FRANCO, W.A. *Toxoplasma gondii* in free-ranging wild small felids from Brazil: molecular detection and genotypic characterization. *Vet Parasitol.*, v. 197, p. 462-469, 2013.

CATENACCI, L. S.; GRIESE J, DA SILVA RC; LANGONI, H. et al. *Toxoplasma gondii* and *Leishmania* spp. infection in captive crab-eating foxes, *Cercdocyon thous* (Carnivora, Canidae) from Brazil. *Vet Parasitol.*, v. 169, p. 190-192, 2010.

COSTA, D. G.; MARVULO.; SILVA, J.S.; SANTANA, S.C. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic and wild animals from the Fernando de Noronha, Brazil. *J Parasitol.*, v. 98, n. 3, p. 679-80, 2012.

DE CRAEYE, S.; SPEYBROECK, N.; AJZENBERG, D. et al. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wildlife: Common parasites in Belgian foxes and Cervidae?. *Vet Parasitol.*, v. 178, p. 64–69, 2011.

DUBEY, J.P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R. et al. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *Int J Parasitol.*, v. 32, p. 929-946, 2002.

DUBEY, J.P. *Toxoplasmosis of Animals and Humans*, second ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, 2010.

DUBEY, J.P.; JENKINS, M.C.; RAJENDRAN, C. et al. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol.*, v. 181, p. 382–38, 2011.

DUBEY J.P.; JENKINS, M. C.; FERREIRA, L. R. et al. Isolation of viable *Neospora caninum* from brains of wild gray wolves (*Canis lupus*). *Vet Parasitol.*, v. 201, p. 150–153, 2014.

FONSECA, V. A.; VALENÇA, R. M. B.; PINHEIRO JR, J. W. et al. Risk factors of occurrence of *Toxoplasma gondii* among horses in the state of Alagoas, Brazil. *Acta Parasitol.*, v. 60, n. 4, p. 707–711, 2015.

- 268 GENNARI, S. M. *Neospora caninum* no Brasil: situação atual da pesquisa. *Rev. Bras.*
 269 *Parasitol Vet.*, v. 13, suplemento 1, p. 23 -28, 2004.
- 270 GONDIM, L. F. P.; MCALLISTER, M. M.; PITT, W. C.; ZEMLICKA, D. E. et al. Coyotes
 271 (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol.*, v. 34, p. 159–161,
 272 2004.
- 273 SUTEU, O.; MIHALCA, A. D.; PASTIU, A. I. et al. Red Foxes (*Vulpes vulpes*) in Romania
 274 are Carriers of *Toxoplasma gondii* but not *Neospora caninum*. *J Wildlife Dis.*, v. 50, p. 713-
 275 716, 2014.
- 276 HURTADO, A.; ADURIZ, G.; MORENO, B. et al. Single tube nested PCR for the
 277 detection of *Toxoplasma gondii* in fetal tissues from naturally aborted ewes. *Vet Parasitol.*,
 278 v. 102, p. 17-27, 2001.
- 279 KING, J.S.; SLAPETA, J.; JENKINS, D. J. et al. Australian dingoes are definitive host of
 280 *Neospora caninum*. *Int J Parasitol.*, v. 40, p. 945–950, 2010.
- 281 LINDSAY, D. S.; DUBEY, J.P.; DUNCAN, R.B. Confirmation that the dog is a definitive
 282 host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol.*, v. 82, p. 327–333, 1996.
- 283 MCALLISTER, M.M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. et al. Dogs are definitive hosts of
 284 *Neospora caninum*. *Int. Journal Parasitology.*, v. 28, p. 1473–1478, 1998.
- 285 NARDI JUNIOR, G.; NARDI, K. F.; COLENCI, R.; SANTOS, E. L. B. Toxoplasmose:
 286 Aspectos de saúde pública e importância ao agronegócio, *Ték e Lóg.*, v. 3, n. 1, 2012.
- 287 NASCIMENTO, C. O.; SILVA, M. L.; KIM, P. C. et al. Occurrence of *Neospora caninum*
 288 and *Toxoplasma gondii* DNA in brain tissue from hoary foxes (*Pseudalopex vetulus*) in
 289 Brazil. *Acta Trop.*, v. 146, p. 60-65, 2015.
- 290 PINHEIRO JR, J.W.; MOTA, R. A.; OLIVEIRA, A. A. et al. Prevalence and risk factors
 291 associated to infection by *Toxoplasma gondii* in ovine in the State of Alagoas, Brazil.
 292 *Parasitol Res.*, v. 105, p.709–715, 2009.
- 293 RIZZO, H.; GAETA, N. C.; HORA, J. H. C. et al. Risk factors for *Toxoplasma gondii*
 294 infection in sheep in the northeastern region of Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v. 54,
 295 n. 2, p. 139-146, 2017.
- 296 VITALIANO, S. N.; SOARES, H.S.; MINERVINO, A. H. H. et al. Genetic
 297 characterization of *Toxoplasma gondii* from Brazilian wildlife revealed abundant
 298 newgenotypes. *Int J Parasitol. Parasites Wildlife.*, v. 3, p. 276-283, 2014.
- 299 YAI, L.E.O.; RAGOZO, A. M. A.; CAÑON-FRANCO, W. A. et al. Occurrence of *Neospora*
 300 *caninum* antibodies in capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) from São Paulo State ,
 301 Brazil. *J. Parasitol.*, v. 94, n. 3, p. 766, 2009.

302 WOLFE, A.; HOGAN, S.; MAGUIRE, D. et al. Red foxes (*Vulpes vulpes*) in Ireland as hosts
303 for parasites of potential zoonotic and veterinary significance. *Vet Rec.*, v. 149, p. 759 – 763,
304 2001.

305

306

307

308

309

310

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, I. C. L. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs from rural properties surrounding a biological reserve, Espírito Santo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 25, n.4, p.536-539, 2016.
- AGUIRRE, A.A. Wild canids as sentinels of ecological health: a conservation medicine perspective. **Parasites & Vectors**, v.2, p. 2, 2009.
- ALAGOAS EM DADOS E INFORMAÇÕES– **Mesorregiões do Estado de Alagoas**. 2013 Disponível em < <http://dados.al.gov.br/dataset/mesorregioes-do-estado-de-alagoas> > Acesso em 05 out 2018.
- ALMEIDA, J.C. et al. First isolation and RFLP genotyping of *Toxoplasma gondii* from crab-eating fox (*Cerdocyon thous* – Linnaeus, 1766). **Acta tropica**, v. 169, p. 26-29, 2017.
- ALMEIDA, J.C. et al. Molecular and serological investigation of infectious diseases in captive and free-range crab-eating fox (*Cerdocyon thous* – Linnaeus, 1776) from northeastern Brazil. **Acta Parasitologica**, v. 63, n. 1, p. 184–189, 2018.
- ALMERIA, S. et al. Red foxes (*Vulpes vulpes*) are a natural intermediate host of *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v.107, p. 287–294, 2002.
- AMARAL, R. L.G. et al. *Neospora caninum* em bovinos em matadouros de Pernambuco e Alagoas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v 32, n. 10, p. 963-966, 2012.
- AMENDOEIRA, M. R. R; COSTA, T; SPALDING, S. M. *Toxoplasma gondii* Nicolle Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Sarcocystidae) e a Toxoplasmose. **Revista Souza Marques**, v. 1, n. 1, p. 15-35, 1999.
- ANDERLINI, GA. et al. Risk factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in goats. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 157-162, 2011.
- ANDERSON, ML; ANDRIANARIVO, AG; CONRAD, PA. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 417–431, 2000.
- ANDRÉ, M. R. et al. Antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in captive neotropical and exotic wild canids and felids. **Journal Parasitology**, v. 96, p. 1007-1009, 2010.
- BAGATINI, T. **Evolução dos índices de atropelamento de vertebrados silvestres nas rodovias do entorno da Estação Ecológica águas emendadas, DF, Brasil, e eficácia de medidas mitigadoras**. Dissertação (Mestrado em Ecologia), Universidade de Brasília, 74p, 2006.
- BARLING, K.S. et al. Spatial associations among density of cattle, abundance of wild canids, and seroprevalence to *Neospora caninum* in a population of beef calves. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 217, p. 1361-1365, 2000.

BARR, BC. et al. *Neospora*-like protozoa1 infections associated with bovine abortions. **Veterinary Pathology**, v. 28, p. 110-116,1991.

BEISIEGEL, B.M. et al. Avaliação do risco de extinção do Cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 138-145, 2013.

BENETTI, A. H. et al. Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, cães e trabalhadores rurais da região Sudoeste do Estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, p. 29-33, 2009.

BJERKÅS, I ; MOHN, S.F ; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift fur Parasitenkunde**, v. 70, p. 271-274, 1984.

BJERKAS, I; DUBEY, J.P. Evidence that *Neospora caninum* is identical to the *Toxoplasma*-like parasite of Norwegian dogs. **Acta Veterinary Scandinavica**, v.32, p.407-410, 1991.

BASZLER, T.V. et al. Detection by PCR of *Neospora caninum* in fetal tissues from spontaneous bovine abortions. **Journal of Clinical Microbiology**, v.37, p. 4059-4064, 1999.

BUENO, A.A; MOTTA-JUNIOR, J.C. Food habits of two syntopic canids, the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in southeastern Brazil. **Revista Chilena de Historia Natural**, v. 77, p. 5-14, 2004.

BUXTON, D. et al. A. Maternal and fetal immune responses of cattle inoculated with *Neospora caninum* at mid-gestation. **Journal of Comparative Pathology**, v.130, p. 81-91, 2002.

CABRAL, A.D. et al.Screening for *Toxoplasma gondii* in aborted bovine fetuses in Brazil. **Arquivo Instituto Biologia**. [online], v. 80, n.1, p.103-105, 2013.

CAÑON-FRANCO, W.A. et al. Detection of antibodies to *Neospora caninum* in two species of wild canids, *Lycalopex gymnocercus* and *Cerdocyon thous* from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.123, p. 275–277, 2004.

CAÑON-FRANCO, W.A. et al. *Toxoplasma gondii* in free-ranging wild small felids from Brazil: Molecular detection and genotypic characterization. **Veterinary Parasitology**, v.197, p. 462–469, 2013.

CATENACCI, L .S. et al. *Toxoplasma gondii* and *Leishmania spp.* infection in captive crab-eating foxes, *Cerdocyon thous* (Carnivora, Canidae) from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 169, n. 1-2, p. 190-192, 2010.

CHOMEL, B.B; BELOTTO, A; MESLIN, F.-X. Wildlife, exotic pets, and emerging zoonoses. **Emerging Infectious Diseases**, v.13, p. 6-11, 2007.

CORBELLINI, L. G. et al. *Neosporosis* as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.103, p.195-202, 2002.

CORRÊA, M, F. et al. Activity, habitat use, density, and reproductive biology of the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) and comparison with the pampas fox (*Lycalopex gymnocercus*) in a Restinga area in the southern Brazilian Atlantic Forest. **Mammalian biology**, v.74, p.220–229, 2009.

COSTA, K.S. et al. Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v.38, p.157-159, 2008.

COURTENAY, O; MAFFEI, L. Crab-eating fox *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766).In: Sillero-Zubiri, C.; Hoffmann, M. & Macdonald, D.W. (eds.). Canids: foxes, wolves, jackals and dogs. **Status survey and conservation action plan**. IUCN, p. 32-38, 2004

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A.; HYATT, A.D. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. **Acta Tropica**, v.78, p.103-116, 2001.

DIAS, L.R.O. et al. Doenças parasitárias reprodutivas em bovinos – Neosporose. **PUBVET**, Londrina, v. 8, n. 3, 2014.

DUBEY, J.P. Taxonomy of Sarcocystis and other Coccidia of cats and dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**.v.170,p.778-782.1977.

DUBEY, J.P; BEATTIE .Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 192, p. 1269–1285, 1988.

DUBEY, J.P. Isolation of *Toxoplasma gondii* from a naturally infected beef cow. **Journal Parasitology**, v.78, p.151-153,1992.

DUBEY, J. P; LINDSAY, D. S. Neosporosis. **Parasitology Today**, v. 9, p. 452-458, 1993.

DUBEY, J. P; LINDSAY, D. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 67, p. 1-59, 1996.

DUBEY, J.P; LINDSAY, D.S; SPEER, C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, v.11, n. 2, p. 267–299, 1998.

DUBEY, J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v.84, p. 349 -367, 1999.

DUBEY, J.P. et al. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **International Journal Parasitology**, v.32, p. 929-946, 2002.

DUBEY, J.P. A review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **Korean Journal Parasitology**, v 41, p. 1–16, 2003.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p. 57–72, 2004.

DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 21, p. 473-483, 2005.

DUBEY JP; SCHARES G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v.140, p, 1–34, 2006.

DUBEY, J.P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L.M. Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neopora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, p. 323-367, 2007.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis in sheep—the last 20 years. **Veterinary Parasitology**, v.163, p.1–14, 2009.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis of Animals and Humans, second ed. CRC Press, **Boca Raton**, Florida , 313p, 2010.

DUBEY, J.P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals – the last five years. **Veterinary Parasitology**, v. 180, p. 90–108, 2011.

FACURE, K.G; MONTEIRO-FILHO, E.L.A. Feeding habits of the Crab-eating fox, *Cerdocyon thous* (Carnivora, Canidae) in a suburban area of southeastern Brazil, v. 60, p.147-149, 1996.

FACURE, K.G; GIARETTA, A.A ; MONTEIRO-FILHO, E.L.A. Food habits of the crab-eating fox, *Cerdocyon thous*, in an altitudinal forest of the Mantiqueira Range, southeastern Brazil. **Mammalia**,v. 67, n.4, p.503-511, 2003.

FARIA . et al. Risk Factors Associated with *Neospora caninum* Seropositivity in Sheep from the State of Alagoas, in the Northeast Region of Brazil. **Journal Parasitology**, v. 96, n. 1, p. 197–199, 2010.

FERGUSON, D.J.P. *Toxoplasma gondii*: 1908-2008, homage to Nicolle, Manceaux and Splendore. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 133-148, 2009.

FIORELLO, C.V.; NOSS, A.J.; DEEM, S.L. Demography, Hunting Ecology, and Pathogen Exposure of Domestic Dogs in the Isoso of Bolivia. **Conservation Biology**, Malden, v. 20, n. 3, p. 762–771, jun. 2006.

FORNAZARI, F.; LANGONI H. Principais zoonoses em mamíferos selvagens. **Veterinária e Zootecnia**, v. 21, p. 10-24, 2014.

FORTUNATO, M.; GUEREIRO, D. S.; STILWELL, G. *Neospora caninum* como causa de aborto bovino em explorações leiteiras. **Revista Vaca Leiteira**, v. 18, n. 111, p. 64-68, 2010.

GATTI, A. et al. Diet of two sympatric carnivores, *Cerdocyon thous* and *Procyon cancrivorus*, in a restinga area of Espírito Santo State, Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v. 22, n. 1, p. 227-230, 2006.

GENNARI, S.M. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies from wild canids from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.121, p.337-340, 2004.

GONDIM, L.F.P. et al. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v.34, p.159-161, 2004.

GONDIM, L. F. P.; MCALLISTER, M. M.; GAO, L. Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 134, n. 1-2, p. 33-39, 2005.

GONDIM, L.S.Q. et al. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in sparrows (*Passer domesticus*) in the Northeast of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.168, p.121-124, 2010.

KING, J.S. et al. Australian dingoes are definitive host of *Neospora caninum*. **International Journal Parasitology**, v. 40, p. 945–950, 2010.

HENNEMAN III, W.W.; THOMPSON, S. D.; KONECNY, M. J. Metabolism of crab-eating foxes, *Cerdocyon thous*: ecological influences on the energetics of canids. **Physiological Zoology**, v. 56, p.319–324, 1983.

HURTADO, A. et al. Single tube nested PCR for the detection of *Toxoplasma gondii* in fetal tissues from naturally aborted ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 102, p.17-27, 2001.

JACKSON, M. W; HUTCHISON, W.N. The Prevalence and Source of *Toxoplasma* Infection in the Environment. *Advances in Parasitology*, v. 28, p. 55-105, 1989

JORGE, R.S.P. et al. Ocorrência de patógenos em carnívoros selvagens brasileiros e suas implicações para a conservação e saúde pública. **Oecologia Australis**, v.14, p.686-710, 2010.

LANGONI, H. et al. Serological profile of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in commercial sheep from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.177, p.50–54, 2011.

LARSON, R.L.; HARDIN, D.K.; PIERCE, V.L. Economic considerations for diagnostic and control options for *Neospora caninum*-induced abortions in endemically infected herds of beef cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, p. 1597–1604, 2004.

LEMO, F. G., FACURE, K. G. E DA COSTA, A. N. Competition between crab-eating and hoary fox. **Canid news**, v.10, p. 3, 2007.

LEMO, F.G.; FACURE, K.G.; AZEVEDO, F.C. A first approach to the comparative ecology of the hoary fox and the crab-eating fox in a fragmented human altered landscape in the Cerrado biome at Central Brazil. In: ROSALINO, L.M.; GHELER-COSTA, C. (eds.). **Middle-sized carnivores in agricultural landscapes**. New York: Nova Science Publishers, 2011, p. 143-160.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J.P.; DUNCAN, R.B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 82, p. 327–333, 1996.

LINDSAY, D. S; ROSYPAL, A. C. The sylvatic cycle of *Neospora caninum*: where do we go from here?. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 10, p. 439-440, 2005.

LOPES, C.W.G. Neosporose - uma doença responsável por abortos em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, n. 4, p. 479-566, 1999.

LUCHERINI, M. *Cerdocyon thous*. **The IUCN Red List of Threatened Species** 2015:e.T4248A81266293. 2015. Disponível em:<
<https://www.iucnredlist.org/species/4248/81266293>> Acesso em 17 out 2018

ANSARI-LARI, M. et al. Association of *Neospora caninum* with reproductive performance in dairy cows: A prospective study from Iran. **Veterinary Research Forum**, v. 8, n. 2, p.109 – 114, 2017.

MACHADO, G.P. et al. Seroprevalence and risk factors associated with neosporosis in sheep and dogs from farms. **Veterinary Parasitology**, v.182, p. 356–358, 2011.

MAGALHÃES, F.J.R. et al. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in sheep and cattle from Fernando de Noronha Island, **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 25, n. 4, p. 511-515, 2016.

MATTOS, B. C. et al. Soroprevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em canídeos selvagens cativos. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.17, Supl. 1, p. 267-272, 2008.

MARSH, A. E. et al. Neosporosis as a cause of equine Protozoal Myeloencephalitis. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 209, p. 1907- 1913, 1996.

McALLISTER, M.M. et al. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p.1473 – 1478, 1998.

MACDONALD, D. W; COURTENAY. O. Enduring social relationships in a population of crab-eating zorros, *Cerdocyon thous*, in amazonian Brazil (Carnivora, Canidae). **Journal of Zoology**, v. 239, p. 329-355, 1996.

MELO, D.P.G. et al. Prevalência de anticorpos anti - *Neospora caninum* em bovinos das microrregiões de Gioânia e Anápolis, Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 3, p, 105-109, 2006.

MILLAR, P.R. et al. Importância dos animais de produção na infecção por *Toxoplasma gondii* no Brasil. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 29, n. 3, p. 693-706, 2008.

MÖRNER, T. et al. Surveillance and monitoring of wildlife diseases. **Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)**, v. 21, p. 67-76, 2002.

MUGRIDGE N.B. Phylogenetic analysis based on full-length large subunit ribosomal RNA gene sequence comparison reveals that *Neospora caninum* is more closely related to *Hammondia heydorni* than to *Toxoplasma gondii*. **International Journal Parasitology**, v. 29, p. 1545-1556, 1999.

NASCIMENTO, C.O. et al. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* DNA in brain tissue from hoary foxes (*Pseudalopex vetulus*) in Brazil. **Acta Tropica**, v.146, p. 60–65, 2015.

NICOLINO, R.R. et al. Estimating the abortion risk difference in *Neospora caninum* seropositive dairy cattle in Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 9, p. 1629-1633, 2015.

NICOLLE, M. C; MANCEAUX, L. On a new protozoan in gundis (*Toxoplasma* N. Gen). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 1-3, 2009.

NUNES, O. C. **Animais silvestres e zoonoses: O exemplo da salmonelose em jabutispiranga (*Geochelone carbonaria*)**. 2007. 74f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) – Universidade Federal da Bahia, Salvador. 2007.

PAGLIARI, S. **Diagnóstico molecular da Toxoplasmose congênita e gestacional: revisão bibliográfica**. 2011. 46 f. Monografia (Especialização em Saúde Coletiva e Saúde da Família) – Centro Universitário Filadélfia, Londrina, 2001.

PANADERO, R. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wild and domestic ruminants sharing pastures in Galicia (Northwest Spain). **Research in Veterinary Science**, v. 88, p. 111–115, 2010.

PATZ, J.A. et al. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. **International Journal of Parasitology**, v.30, p.1395-1405, 2000.

PEARCE-DUVET, J.M.C. The origin of human pathogens: evaluating the role of agriculture and domestic animals in the evolution of human disease. **Biological Reviews**, v.81, p.369-382, 2006.

PESSUTI, C.; SANTIAGO, M.E.B.; OLIVEIRA, L.T.F. Order Carnívora, Family Canidae (dogs, foxes, maned wolves). In: FOWLER, M.E.; CUBAS, Z.S. **Biology, medicine and surgery of south american wild animal**, Ames: Iowa State University Press, v. 26, p. 279-290, 2001.

PINHEIRO, A. F. et al. Expression of *Neospora caninum* NcSRS2 surface protein in *Pichia pastoris* and its application for serodiagnosis of *Neospora* infection. **Pathogens and Global Health**, v. 107, n. 3, p. 116–121, 2013.

PINHEIRO JR., J.W. et al. Prevalence and risk factors associated to infection by *Toxoplasma gondii* in ovine in the State of Alagoas, Brazil. **Parasitology Research**, v. 105, p. 709–715, 2009.

PITMAN, M. R. P. L. et al. **Manual de identificação, prevenção e controle de predação por carnívoros**, IBAMA, 83 p, 2002.

PRADA, C.S. **Atropelamento de vertebrados silvestres em uma região fragmentada do nordeste do Estado de São Paulo: quantificação do impacto e análise dos fatores envolvidos**. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais), Universidade Federal de São Carlos, p. 147 , 2004.

PROENÇA. et al. Serologic survey of infectious diseases in populations of maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) from Águas Emendadas Ecological Station, Brazil. **Journal Zoo Wildlife Medicine**, v. 44, n. 1, p. 152-155, 2013.

REZINI, J.A. **Atropelamento de mamíferos em rodovias do leste dos Estados do Paraná e Santa Catarina, Sul do Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação), Universidade Federal do Paraná, p, 50 , 2010.

REY, L. **Parasitologia**: parasitos e doenças parasitárias do homem das Américas e da África. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991, 731p.

ROMERO J.J; FRANKENA K. Bovine neosporosis: a review. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 3, p. 901-913, 2004.

ROSYPAL, A.C.; LINDSAY, D.S. The sylvatic cycle of *Neospora caninum*: where do we go from here? *Trends in Parasitology*, v. 21, p. 439-440, 2005.

SAWADOGO P. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sheep from Marrakech, Morocco. **Veterinary Parasitology**, v. 130, p. 89-92, 2005.

SEIMENIS, A.M. The spread of zoonoses and other infectious diseases through the international trade of animals and animal products. **Veterinaria Italiana**, v. 44, p. 591-599, 2008.

SLAPETA, JR. et al. Dog shedding oocysts of *Neospora caninum*: PCR diagnosis and molecular phylogenetic approach. **Veterinary Parasitology**, v. 109, p. 157-167, 2002.

SOUSA, M.E. et al. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs in the state of Alagoas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 3, p. 287-290, 2012.

SILVA, R. A. M. S.; LIMA, E. S. S.; SANCHEZ, V. Estudos Preliminares sobre os Valores hematológicos do lobinho (*Cerdocyon thous*) do Pantanal, MS. Embrapa: **Circular Técnica 56**, 2004. Disponível em: <
<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/812055/1/CT56.pdf>> Acesso em 17 out 2018

SILVA. et al. Neosporose ovina: estado da arte. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 37, n.1, p. 45-52, 2013.

SINGH, B. Molecular methods for diagnosis and epidemiological studies of parasitic infections. **International Journal for Parasitology**, v. 27, p.1135-1145, 1997.

SPLENDRE, A. On a new protozoan parasite of rabbits. **International Journal for Parasitology**, v. 39, p. 861–862, 2009.

TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R., WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 1217-1258, 2000.

THILSTED, J.P; DUBEY, J.P. Neosporosis – Like Abortions in a Herd of Dairy Cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.1, p. 205 – 209, 1989.

TROVATI, R.G.; BRITO, B.A.; DUARTE, J.M.B. Área de uso e utilização de habitat de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous* LINNAEUS, 1766) no cerrado da região central do Tocantins, Brasil. **Mastozoología Neotropical**, v. 14, n. 1, p. 61-68, 2007.

VÉLEZ, J; RAMÍREZ, J; ARISTIZÁBAL, O. An anatomic description of intrinsic brachial muscles in the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*, Linnaeus 1776) and report of a variant arterial distribution. **Journal of veterinary medicine**, v. 47, p.180-183, 2017.

VIANNA, M.C.B. Isolation of *Neospora caninum* from naturally infected white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). **Veterinary Parasitology**, v. 129, n. 3-4, p. 253 – 257, 2005.

VITALIANO, S.N. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in captive maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) from southeastern and midwestern regions of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.122, p.253-260, 2004.

ANEXOS

12/09/2018

ScholarOne Manuscripts



Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Home

Author

Submission Confirmation

Print

Thank you for your submission

Submitted to

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Manuscript ID

ABMVZ-2018-11048

Title

Frequência de *Neospora caninum* e de *Toxoplasma gondii* em Cachorro-do-Mato (*Cercopithecus thous*, Linnaeus, 1776) no estado de Alagoas, Brasil

Authors

PEDROSA, CAMILA DE
LEÃO FILHO, WALTER FRANKLIN
Oliveira, Maria Heloisa
Melo, Renata
Parlamento, Hayanne
Porto, Wagner
Mota, Rinaldo
Nunes, Annelise

Date Submitted

12-Sep-2018

[Author Dashboard](#)

12/09/2018

ScholarOne Manuscripts

© Clarivate Analytics | © ScholarOne, Inc., 2018. All Rights Reserved.

ScholarOne Manuscripts and ScholarOne are registered trademarks of ScholarOne, Inc.

ScholarOne Manuscripts Patents #7,257,767 and #7,263,655.

 @ScholarOneNews |  System Requirements |  Privacy Statement |  Terms of Use